

ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ПРОЦЕССОВ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И ФОРМИРОВАНИЯ
ПОКРОВОВ У ЦЕСТОД НА ПРИМЕРЕ
TRIAENOPHORUS NODULOSUS

В. А. Тимофеев и Б. И. Куперман

Биологический институт Ленинградского университета
и Институт биологии внутренних вод АН СССР, Борок

С помощью электронной микроскопии впервые изучены процессы возникновения и формирования кутикуло-субкутикулярного комплекса у цестод и связанных с ним структур в период превращения онкосферы в процеркоид. Смена ультраструктур поверхности тела ставится в связь со сменой способов питания на разных этапах развития процеркоида.

В настоящее время имеется большое число работ, посвященных ультратонкой структуре наружных покровов цестод (Read, 1955; Kent, 1957; Rothman, 1959, 1960; Rosario, 1962; Threadgold, 1962, 1965; Siddiqui, 1963; Тимофеев, 1964, 1966; Beguin, 1966; Lumsden, 1966; Тимофеев и Куперман, 1967, 1968, 1972; Baron, 1968; Braten, 1968a, 1968b; Charls and Orr, 1968; Morris and Finnegan, 1969; Raj and Smyth, 1969; Rifkin et al., 1970). Благодаря им следует считать, что субмикроскопическое строение поверхностного слоя этой группы паразитов достаточно полно изучено. Особый интерес этот вопрос приобретает в связи с тем, что у ленточных червей, как глубоко специализированной группы паразитов, полностью редуцирована пищеварительная система, и функцию всасывания пищи принимает на себя поверхность тела (кутикула или тегумент).

Большинство исследователей, однако, до настоящего времени ограничивалось изучением покровов лишь на отдельных фазах развития этих паразитов. Число работ, посвященных изменению ультраструктуры их покровов в онтогенезе, очень невелико. Так, нами была изучена ультраструктура кутикулы свободноплавающего корацидия, процеркоида, плероцеркоида и взрослой особи *Triaenophorus nodulosus* (Тимофеев и Куперман, 1967, 1968). В работах Братена рассматриваются покровы *Diphyllbothrium latum* лишь на паразитических фазах развития (Braten, 1968a, 1968b).

В общих чертах кутикула цестод имеет следующее строение. На поверхности ее располагаются несократимые длинные выросты — микротрихии. Собственно кутикула содержит множество вакуолей, гранул и митохондрий, локализованных в ее базальной части. Под вакуолярным слоем лежит базальная пластинка, которую пронизывают цитоплазматические мостики, соединяющие этот слой с клетками субкутикулы, содержащими ядра. Специализированную структуру поверхности тела цестод чаще всего связывают с функцией всасывания. Главную роль в этом играют микротрихии, тонкое строение которых изучено достаточно хорошо (Beguin, 1966; Lumsden, 1966; Rothman, 1968; Тимофеев и Куперман, 1968; Morris and Finnegan, 1969; Raj and Smith, 1969; Тимофеев, 1970).

В наших работах было показано, что микротрихии присутствуют только на паразитических фазах развития — у процеркоида, плероцеркоида и взрослой особи. На поверхности онкосферы свободноплавающего корацидия они не были обнаружены (Тимофеев и Куперман, 1967, 1968). Таким образом, очевидно, что эти образования, как и сама кутикула, возникают в процессе превращения онкосферы в процеркоида. В данной работе мы попытались проследить процесс возникновения и формирования поверхностного слоя и характерных для него структур в этот период развития у процеркоида *T. nodulosus*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Из половозрелых стробил *T. nodulosus* были добыты яйца и поставлены на развитие при 18—20°. Через 6 дней из них вылупились свободноплавающие личинки — корацидии. Корацидии скормливались циклопам, в полости тела которых развивалась первая паразитическая личинка — процеркоид. Для электронной микроскопии фиксировались корацидии; онкосферы, лишенные ресничной оболочки, из кишечника циклопа через 5 минут после заражения и процеркоиды, развивающиеся из онкосфер в полости тела циклопа через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 7.5, 8 и 9 суток после заражения до их полного формирования.

В качестве фиксатора применялась охлажденная 2% четырехокись осмия на веронал-ацетатном буфере (рН=7.4) или 1% раствор осмия (рН=7.2), приготовленный по методу Колфилда. После дегидратации объект заливался в эпоксидную смолу. Ультратонкие срезы, полученные на ультрамикротоме УМТП-2, контрастировали цитратом свинца и уранилацетатом, затем просматривали и фотографировали в электронном микроскопе УЭМВ-100Б при ускоряющем напряжении 75 кв.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Корацидии *T. nodulosus* состоят из онкосферы и слоя клеток, окружающих ее. Электронномикроскопическое исследование корацидия, проведенное нами ранее, показало, что клетки наружного слоя корацидия содержат ядра, многочисленные митохондрии неправильной формы, эндоплазматическую сеть, различные вакуоли, гранулы и сильно осмирующиеся округлые образования липидной природы (Тимофеев и Куперман, 1967). По мере старения корацидия характер цитоплазмы изменяется. Наблюдается дегенерация наружного слоя, связанная с сильной вакуолизацией, образованием крупных полостей и объединением гранул цитоплазмы в звездчатые или продолговатые скопления. Поверхность онкосферы покрыта оболочкой, достигающей толщины 1000А. Она содержит две параллельно идущие мембраны, из которых каждая состоит из трех слоев. Оболочка, окружающая онкосферу, может образовывать складки, которые покрывают ее в два или три слоя. От поверхности онкосферы эти мембраны направлены к наружному ресничному слою, образуя причудливые изгибы и заполняя своими ответвлениями пространство между онкосферой и базальной частью ресничного эпителия. Нами не были обнаружены переходы оболочки онкосферы непосредственно в цитоплазматическую мембрану ресничного эпителия. Соединение онкосферы с эпителиальными клетками происходит, по-видимому, за счет проникновения цитоплазмы последних между ответвлениями оболочки. Ни оболочки онкосферы, ни слой цитоплазмы онкосферы, непосредственно лежащие под ней, не несут никаких структур, напоминающих микротрихии или органоиды кутикулы последующих стадий развития *T. nodulosus* (рис. 1).

5 минут после заражения. Продолжение жизненного цикла *T. nodulosus* осуществляется при заглатывании свободноплавающих корацидиев циклопами. Исследования корацидия, извлеченного из кишечника циклопа через 5 минут после пребывания в нем, показали, что ресничный эпителиальный слой его исчезает, лишь иногда между изгибами

оболочки обнаруживаются остатки его цитоплазмы (рис. 1). Структура оболочки, покрывающей онкосферу, меняется, она превращается в пяти-слойное образование, состоящее из трех плотных линий и двух прозрачных, причем средняя плотная линия в два раза толще краевых. Слой цитоплазмы онкосферы под оболочкой состоит из гранулярного и мембранного материала, в нем присутствуют митохондрии, элементы эндоплазматического ретикулюма, миофибриллы гладких мышечных волокон, гранулы гликогена и различные вакуоли. Самый периферический слой онкосферы имеет изрезанные очертания, он более вакуолизирован, чем в корацидии, и в нем имеют место активные динамические процессы, на что указывает скопление в нем вакуолярных, гранулярных и мембранных структур.

Первые сутки развития процеркоида. Более резко выражены изменения периферического слоя онкосферы после ее проникновения в полость тела циклопа и пребывания в нем в течение одних суток (рис. 2). Оболочка, покрывающая онкосферу, сохраняется. Она располагается на некотором расстоянии от поверхности развивающегося процеркоида и имеет четкую пятислойную структуру. Периферический слой формирующегося процеркоида претерпевает изменения, выражающиеся в образовании мембраноподобной структуры, которая может давать глубокие выпячивания внутрь цитоплазмы. На поверхности процеркоида еще нет ясно выраженной цитоплазматической мембраны. Под мембраноподобной структурой отчетливо видны разбросанные в гомогенном содержимом мышечные волокна, митохондрии и многочисленные вакуоли. В глубине процеркоида лежат ядра, сильно осмиряющиеся гранулы, митохондрии, различные вакуоли и мембранные элементы.

На вторые сутки развития процеркоида происходят резкие изменения в его структуре: исчезает оболочка, окружающая его ранее, и на поверхности процеркоида образуются цитоплазматические выросты — микроворсинки. В самом начале образования они выглядят как небольшие выпячивания цитоплазматической мембраны (рис. 3). Далее они приобретают вид типичных цилиндрических микроворсинок, окруженных двумя мембранами. Содержимое микроворсинок имеет гомогенный гранулярный и фибриллярный характер. Микроворсинки процеркоида этого периода развития имеют длину от 0.2 до 0.3 мк и ширину 0.1 мк. Они располагаются неупорядоченно, направлены в разные стороны и часто берут начало от одного обособленного участка.

Слой цитоплазмы, лежащий непосредственно под микроворсинками, содержит как электроннопрозрачные, так и электронноплотные вакуоли размером 0.15 мк. В нем встречаются также парные мембранные элементы и митохондрии. Последние иногда имеют гигантские размеры, часто ограничивающая их мембрана незамкнута, что позволяет матриксу митохондрий сообщаться с цитоплазмой. Еще ниже лежит мембраноподобное образование, достигающее толщины 400 Å и являющееся, по-видимому, предшественником базальной пластинки (рис. 3). Под этим образованием располагаются недифференцированные и неупорядоченные мышечные волокна, окруженные различного рода мембранными элементами, вакуолями, гранулами и митохондриями.

На третьи сутки развития процеркоида в полости тела циклопа картина неупорядоченного расположения микроворсинок сохраняется. Однако наряду с этим дальнейшие процессы морфообразования приводят к очерчиванию более стабильной картины расположения микроворсинок. На некоторых фотографиях они напоминают микроворсинки кишечного эпителия у различных животных. Структура лежащей под ними мембраны и подстилающего ее слоя сохраняется.

На четвертые сутки развития все элементы поверхности процеркоида становятся более четкими (рис. 4). Микроворсинки располагаются упорядоченно, расстояние между ними достигает 0.3—1.5 мк. Слой, лежащий под микроворсинками, по-видимому будущая кутикула, ясно отделен от нижележащего слоя мембраноподобной струк-

турой и содержит в своем гомогенном матриксе разбухшие митохондрии, электронноплотные и прозрачные вакуоли.

Характерным для процеркоида этого периода развития является появление ядер и разделение слоя, расположенного под мембранной структурой, клеточными границами. Цитоплазма этих клеток (по-видимому, субкутикулярных), как правило, электроннопрозрачна, содержит большое число вакуолей различного размера, комплекс Гольджи, крупные митохондрии с небольшим количеством крист и мембранные элементы. Ядро таких клеток имеет округлую форму, хорошо видимую ядерную оболочку с порами в ней. Содержимое его гомогенно и мелко диспергировано, внутри содержится одно или два сетчатых ядрышка.

На пятый день развития общая картина строения процеркоида изменяется (рис. 5). Клеточные границы становятся более выраженными, цитоплазма клеток — более электронноплотной. Между клетками появляются значительные (иногда до 10 мк) электроннопрозрачные промежутки. Поверхностный неклеточный слой, включающий микроворсинки с прилегающим к ним участком и мембраноподобные образования, также отделен от клеточного слоя прозрачным промежутком. Структура этого слоя сходна с таковым у четырехдневного процеркоида.

У процеркоида шестого дня развития электроннопрозрачные промежутки между клетками и клеточным и поверхностным слоем частично исчезают. Микроворсинки становятся более длинными, до 0.8 мк. Неклеточный слой, лежащий под микроворсинками, приобретает более гомогенный характер. В этом слое обнаруживаются разбухшие митохондрии, которые иногда имеют незамкнутую наружную оболочку, вакуоли, гранулы гликогена, мембранные структуры. Под неклеточным поверхностным слоем лежит группа мембран, ориентированных параллельно слою, несущему микроворсинки (будущая базальная мембрана). Иногда ширина комплекса таких мембран достигает 0.4 мк. Между несколькими рядами мембран встречаются электроннопрозрачные зоны, достигающие ширины 0.2 мк. Под комплексом мембран располагается клеточный слой, состоящий из большого числа тесно прилегающих друг к другу клеток, с очень крупным ядром и обычным набором клеточных органоидов. Ядра часто находятся в непосредственной близости от комплекса мембран, подстилающих поверхностный неклеточный слой. Цитоплазма клеток внутреннего слоя сплошь заполнена гранулами гликогена.

На седьмые сутки развития процеркоида в полости тела циклопа общая картина ультраструктур поверхности тела паразита соответствует тому, что описано для шестого дня развития (рис. 6), хотя иногда в этот период встречаются отклонения, выражающиеся в существовании значительных электроннопрозрачных промежутков между клетками внутреннего слоя и между самим внутренним слоем и неклеточным поверхностным.

Между седьмыми и восьмыми сутками развития наблюдается наиболее существенная, коренная перестройка в структурах поверхностного слоя процеркоида (рис. 7—11). Микроворсинки, покрывающие поверхность тела процеркоида со 2 по 7-е сутки, в период между 7-ми и 8-ми сутками исчезают. В это же время на поверхности тела процеркоида закладываются и формируются новые органоиды — микротрихии, по своей организации принципиально отличающиеся от микроворсинок.

Микротрихии являются производным наружной мембраны поверхности тела процеркоида и образуются очень своеобразно (Тимофеев и Куперман, 1972). На отдельных участках поверхностной (будущей кутикулярной) мембраны откладывается электронноплотное вещество, количество которого увеличивается по мере роста процеркоида. Поверхностная мембрана в этот период имеет четко видную картину: участки свободные от плотного вещества чередуются с участками, где это вещество отложено. Далее параллельно поверхностной мембране и ниже ее возникает двойная мембрана, равная по длине будущей проксимальной части микротрихии.

Впоследствии и на ней откладывается электронноплотное вещество. Так формируется проксимальная часть микротрихии (рис. 7).

Дистальная — бичевидная часть этой структуры возникает за счет отложения электронноплотного материала на концевом участке проксимального отдела, она как бы растет из него (рис. 8). Между дистальным и проксимальным отделами микротрихии формируется перегородка.

Одновременно с этим процессом происходит впячивание поверхностной мембраны в сторону неклеточного слоя под нижней боковой стороной проксимального отдела микротрихии. Этот органоид процеркоида как бы медленно поднимается из горизонтального в вертикальное положение. Так возникают и формируются органоиды абсорбции цестод — микротрихии (рис. 9—11).

Слой неклеточного вещества, лежащий под микротрихиями, также претерпевает изменения — он становится все более похож на будущую кутикулу сформированного процеркоида. В этом слое имеются вакуоли, сходные с теми, что образуют структуру кутикулы последующих стадий развития цестод. Однако в период между седьмыми и восьмыми сутками развития процеркоида количество вакуолей невелико. Наряду с ними в поверхностном слое обнаруживается множество отдельных мембран, митохондрий с незамкнутой наружной оболочкой, кольцеобразных извитых профилей. Гранулы гликогена в этот период развития в неклеточном поверхностном слое не встречаются. Базальная пластинка у процеркоидов этого периода развития еще не образована. На ее месте располагаются параллельные друг другу и поверхностной мембране мембранные структуры, из которых, вероятно, впоследствии за счет их конденсации и образуется базальная пластинка.

Под образующейся кутикулой и базальной пластинкой лежит клеточный слой, состоящий из тесно прилегающих друг к другу клеток с ядром, занимающим почти весь объем клетки. В ядре содержится одно или несколько ядрышек. В цитоплазме клеток рассеяны вакуоли, митохондрии, отдельные мембраны, образующие профили разнообразной формы, гранулы гликогена. Этот клеточный слой еще малодифференцирован и не образует типичных клеток погруженного эпителия. Цитоплазма клеток явно находится в крайне активном состоянии, на что указывает ее вакуолизированная структура.

На восьмые сутки развития процеркоида в основном завершается формирование микротрихий, собственно кутикулы, базальной пластинки и субкутикулярного слоя клеток, хотя внутренние процессы их формообразования еще не закончены.

Микротрихии у процеркоидов в общих чертах уже сформированы, размеры их достигают окончательной величины, хотя электронноплотный материал еще не полностью заполняет дистальный отдел и стенки проксимального отдела микротрихий. На поперечных срезах он выглядит в виде сливающихся плотных гранул. Проксимальный отдел микротрихии заполнен гомогенным мелкодисперсным содержимым.

Собственно кутикула содержит в своем матриксе множество уже сформированных вакуолей. В ее базальной части располагаются сплошным слоем митохондрии. Последние часто либо контактируют с вакуолями кутикулы, либо отпочковывают от своей наружной мембраны округлые профили. Возможно, что таким способом образованы все вакуоли кутикулы. Кутикулярный слой достигает в этот период толщины 1—2 мк. Он подстилается базальной пластинкой, которая является аналогом базальной мембраны. Последняя состоит из гомогенного вещества, в котором иногда просматриваются тонкие фибриллы.

Под базальной пластинкой лежат слои уже сформированных продольных и поперечных мышечных волокон. Далее следует слой субкутикулярных клеток. В отличие от предшествующей стадии развития у восьмидневного процеркоида клетки этого слоя обособляются друг от друга значительным электроннопрозрачным межклеточным пространством. В этот период развития начинает формироваться канал, соединяющий

вакуолярный слой кутикулы с субкутикулярными клетками. У сформированного процеркоида он представлен комплексом тесно прилегающих друг к другу трубочек, которые соединяют кутикулу с цитоплазмой субкутикулярных клеток. Канал образуется, по-видимому, за счет мембранных и вакуолярных элементов цитоплазмы клеток погруженного эпителия.

На девятые сутки процеркоид *T. nodulosus* полностью сформирован и имеет строение кутикулы и субкутикулярного слоя соответствующее тому, что описано нами ранее (Тимофеев и Куперман, 1968).

Микротрихии состоят из мощной прямоугольной, квадратной или округлой базальной части и отходящей от нее вытянутой бичевидной дистальной. Высота основания микротрихии достигает 0.5—0.8 мк, ширина 0.5—0.6 мк. Проксимальная часть микротрихии отделена от дистальной плотной пластинкой толщиной около 150 Å. Длина дистальной части достигает 2—3 мк. Содержимое этой части представлено набором плотно упакованных трубочек диаметром 70—100 Å и окружено мембраной. Внутри базальной части микротрихии при фиксации глутаральдегидом просматриваются трубочки, гранулы, одна или несколько вакуолей (рис. 12). Различаются два типа микротрихий — крупные и мелкие.

Под микротрихиями находится собственно кутикула, толщина которой варьирует от 1 до 3 мк. Содержимое кутикулы состоит из вакуолей, извитых мембран, образующих профили различного очертания, многочисленных митохондрий и гомогенного матрикса. Каждая вакуоль окружена двойной мембраной и иногда содержит электронноплотное вещество. Диаметр вакуолей колеблется от 200 Å до 0.3 мк. Под кутикулой находится гомогенная базальная пластинка толщиной 0.1—1 мк. Через нее проходят каналы, соединяющие кутикулу с субкутикулярными клетками. Каналы окружены мембраной, которая является продолжением цитоплазматической мембраны субкутикулярных клеток. Диаметр канала — 0.10—0.15 мк.

Продольная и поперечная мускулатура субкутикулярного слоя представлена мышечными тяжами диаметром 0.5—1.5 мк. Внутреннее содержимое их представлено протофибриллами, снаружи они окружены оболочкой.

В субкутикулярных клетках процеркоида обнаруживаются ядра, эндоплазматическая сеть, митохондрии, различные гранулы и вакуоли. Цитоплазма субкутикулярных клеток заполнена мелкими гранулами звездчатой формы размером 250—300 Å. Такие гранулы рассматривают как скопление гликогена (Lumsden, 1965). Иногда в цитоплазме клеток встречаются сильно осмирующиеся гранулы, по-видимому, липидной природы. И, наконец, в субкутикулярном слое встречаются известковые гранулы, развивающиеся в известковой клетке (Тимофеев, 1964).

ОБСУЖДЕНИЕ

Электронномикроскопическое исследование поверхности тела *T. nodulosus* в период превращения онкосферы в процеркоид позволило проследить процесс возникновения и формирования кутикуло-субкутикулярного комплекса и характерных для него структур. Как было показано, динамика образования покровов цестод представляет сложный морфо-физиологический процесс, связанный с существенной перестройкой поверхностного слоя и сменой его ультраструктур. Срок полного развития процеркоида *T. nodulosus* до инвазионного состояния составляет 8—9 дней. Такой же период необходим для окончательного формирования поверхностного слоя этих цестод.

Исследование свободноплавающего корацидия *T. nodulosus* показывает, что образование типа кутикулы зрелого процеркоида на поверхности онкосферы отсутствует. Это образование характерно для паразитических стадий развития цестод. У корацидия отсутствует специальная пищеварительная система и его жизнеспособность, и продолжительность жизни

определяется запасом питательных веществ, находящихся в ресничном эпителиальном слое, который обеспечивает его движение. Полное использование запасных питательных веществ приводит корацидии к гибели и прерыванию цикла развития цестод.

После заглатывания корацидия циклопом эпителиальный слой сбрасывается уже в кишечнике рачка. Отслаивание ресничного слоя происходит на границе плотной оболочки, покрывающей онкосферу. Характер этой оболочки меняется — вместо двух параллельно идущих мембран, каждая из которых состоит из трех слоев, оболочка превращается, вероятно, за счет конденсации мембран в пятислойное образование, состоящее из трех плотных линий и двух прозрачных, причем средняя плотная линия в два раза толще краевых. Назначение этой оболочки, по-видимому, — защита от пищеварительных ферментов хозяина. После проникновения зародыша через стенку кишечника в полость тела циклопа оболочка, окружающая онкосферу, сохраняется в течение первых суток ее развития. Под защитой ее протекают начальные этапы морфогенеза паразита. Складчатый характер такой оболочки позволяет зародышу увеличивать размеры своего тела при превращении в процеркоида.

На вторые сутки пребывания паразита в полости тела циклопа плотная оболочка исчезает, и на поверхности тела процеркоида формируются цитоплазматические выросты — микроворсинки. Они еще не носят упорядоченного характера и напоминают псевдоподии амёб или выросты на поверхности клеток ткани.

При развитии процеркоида с 4-е по 7-е сутки структура и расположение микроворсинок стабилизируются. Они становятся более длинными и располагаются упорядоченно. Продолжается формирование будущего кутикулярного и субкутикулярного слоя и генезис их внутренних структур.

С появлением микроворсинок возникает возможность интенсивного питания, что необходимо для активного органогенеза, протекающего в процеркоиде. Структура микроворсинок процеркоида *T. nodulosus* полностью соответствует тому, что известно для микроворсинок кишечного эпителия различных животных, а также весьма сходна со строением микроворсинок тегумента спористов у трематод (Гинецинская, Машанский и Добровольский, 1966). Они представляют собой цилиндр, окруженный цитоплазматической мембраной, внутри которой находится гранулярное и фибриллярное вещество. Особенно отчетливо такая структура проявляется в период развития процеркоида с 4 по 7-е сутки. К сожалению, энзиматические свойства поверхности процеркоида в процессе его развития изучены чрезвычайно плохо, поэтому трудно с определенностью говорить о химической роли этой своеобразной щеточной каймы. Хотя пользуясь структурными аналогиями можно предполагать, что поверхностный слой, несущий микровилли, действует по типу кишечного эпителия, осуществляя гидролиз или пристеночное пищеварение и всасывание.

Между 7-ми и 8-ми сутками развития процеркоида наблюдается наиболее существенная перестройка его поверхностной структуры: микроворсинки замещаются микротрихиями — специализированными органоидами цестод, общий план строения которых сохраняется на всех последующих стадиях их жизненного цикла.

Следовательно, формирование кутикулы и субкутикулярного слоя процеркоида *T. nodulosus* проходит следующие этапы (рис. 13).

1. Формообразование под защитной оболочкой (1-е сутки развития).
2. Образование неупорядоченных микроворсинок и исчезновение плотной оболочки (2—3-и сутки развития).
3. Упорядоченное расположение микроворсинок и генезис внутренних структур (4—7-е сутки).
4. Исчезновение микроворсинок и образование микротрихий (7—8-е сутки).
5. Окончательное формирование микротрихий, кутикулы и субкутикулярного слоя (8—9-е сутки).

Электронномикроскопическое исследование формирующегося процеркоида *T. nodulosus* показало, что на его поверхности происходит смена ультраструктур, осуществляющих процессы пищеварения и всасывания. Одновременно с этим имеет место и смена способов питания на разных

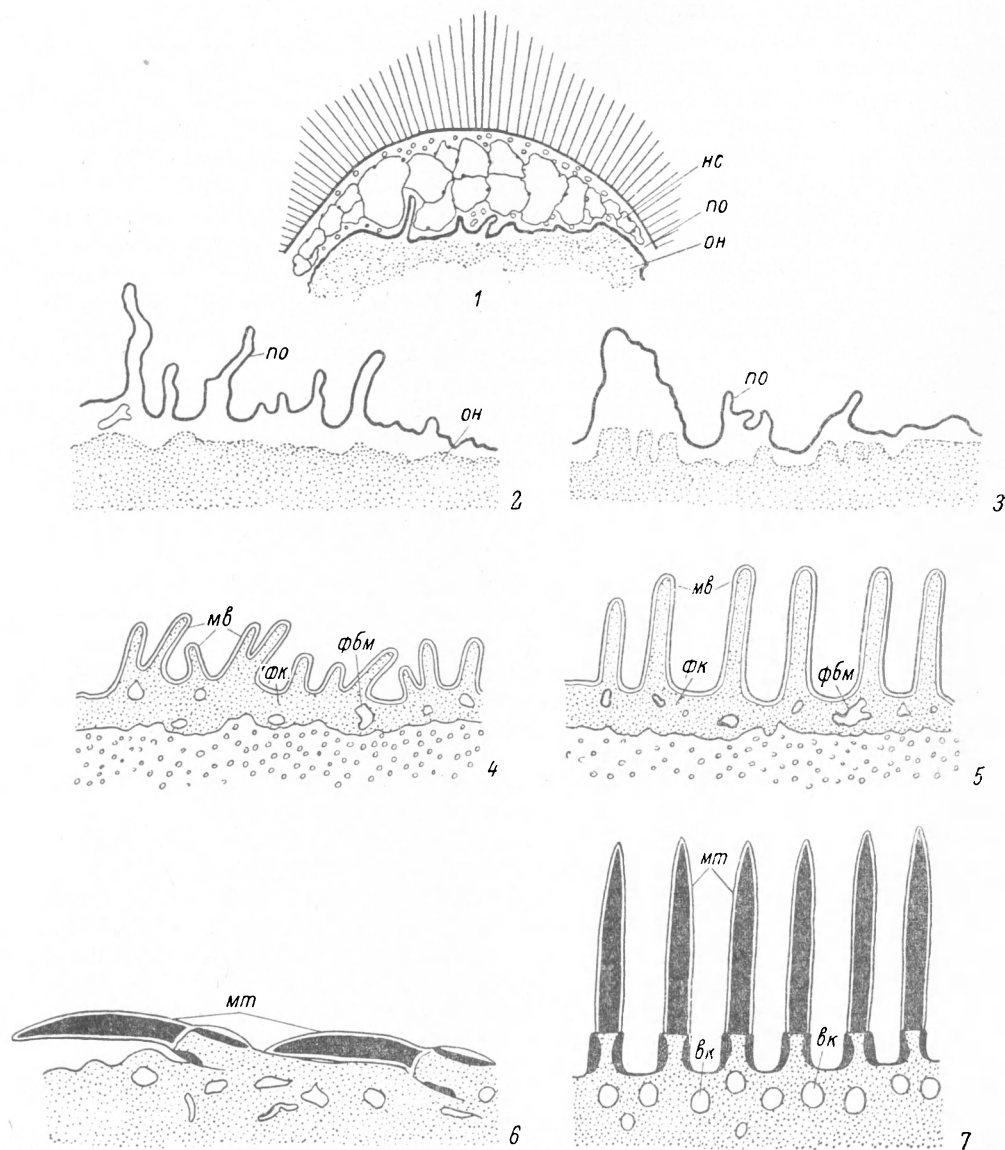


Рис. 13. Схема формирования поверхностного слоя в процессе превращения онкосферы в процеркоид и развития его в полости тела циклопа.

1 — свободноплавающий корацидий; 2 — онкосфера из кишечника циклопа, лишенная наружного слоя; 3 — процеркоид, окруженный плотной оболочкой, на первые сутки развития в полости тела циклопа; 4 — ормирование неупорядоченно расположенных микроворсинок (2—3-и сутки развития процеркоида); 5 — упорядоченное расположение микроворсинок и их рост (4—7-е сутки развития); 6 — формирование микротрихий на поверхности тела процеркоида (7—8-е сутки развития); 7 — сформированные микротрихии (8—9-е сутки). нс — наружный слой корацидия. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1—6, 7—12.

этапах созревания процеркоида. Формообразование под защитной оболочкой связано с расходом запасных питательных веществ онкосферы (1-е сутки развития). С возникновением микроворсинок и способностью противостоять губительному воздействию хозяина у процеркоида исчезает оболочка и он переходит на самостоятельное питание (2—3-и сутки).

В основной период развития (4—7-е сутки) питание процеркоида связано с микроворсинками. Возможно, что на этой стадии развития имеется феномен фагоцитоза, затем пристеночного пищеварения, функционально сходного с таковым у клеток кишечного эпителия (Уголев, 1963). По-видимому, такой способ питания достаточно эффективен, так как в этот период совершаются все основные процессы морфогенеза процеркоида и накопление запасных питательных веществ.

Однако такой тип структур, как микроворсинки и связанный с ними химизм, свойственный незрелому процеркоиду, видимо, не может обеспечить дальнейший рост и развитие паразита на следующих стадиях его цикла.

Микроворсинки уступают место микротрихиям — новым органоидам, существенно отличающимся от первых своей организацией. Между микроворсинками и микротрихиями генетическое родство отсутствует. По своей функции микротрихии представляют собой мощный абсорбционный аппарат (Rothman, 1968; Тимофеев, 1970), заменяющий, вероятно, питание по типу пристеночного пищеварения. В последних работах, однако, предполагается существование у цестод мембранного (пристеночного) пищеварения в столь же интенсивной степени, как и у высших животных (Аркинд и Раева, 1971).

Микротрихии, как специализированные органоиды абсорбции, характерны только для ленточных червей и среди других паразитических организмов не встречаются. Возникновение такой структуры, как микротрихии, служит, по-видимому, для увеличения скорости поступления пищевых веществ в организм цестод, что, возможно, является решающим фактором для обеспечения активного роста паразитов на последующих стадиях их развития (плероцеркоид и взрослая особь).

Важно отметить, что полное формирование микротрихий и покровов процеркоида *T. nodulosus* завершается к 8—9-м суткам, что совпадает с окончанием развития личинки в целом и способностью ее к инвазированию следующего промежуточного хозяина — рыбы.

Л и т е р а т у р а

- Аркинд М. В. и Раева И. И. 1971. Мембранное (пристеночное) пищеварение у цестод. Журн. эвол. биохим. и физиол., 7 (4) : 375—379.
- Гинецкая Т. А., Машанский В. Ф. и Добровольский А. А. 1966. Ультраструктура покровов и способ питания редий и спороцист (Trematodes). ДАН СССР, 166 (4) : 1003—1004.
- Тимофеев В. А. 1964. Строение кутикулы *Schistocephalus pungitii* на разных фазах его развития в связи с особенностями питания цестод. В сб.: Электронная и флуоресцентная микроскопия клетки, М.—Л. : 50—60.
- Тимофеев В. А. 1966. Строение и функция кутикулы и субкутикулярных клеток некоторых цестод. Автореф. канд. дисс., Л.
- Тимофеев В. А. 1970. Электронномикроскопическое исследование распределения фталоцианинового красителя бирюзового прямого светопрочного в витально окрашенных плероцеркоидах *Schistocephalus pungitii*. Цитология, 12 (9) : 1183—1190.
- Тимофеев В. А. и Куперман Б. И. 1967. Ультратонкое строение наружных покровов корацидия *Triaenophorus nodulosus* (Pall.). Паразитол., 1 (2) : 124—130.
- Тимофеев В. А. и Куперман Б. И. 1968. Ультратонкое строение кутикулы и субкутикулярного слоя процеркоида, плероцеркоида и взрослой особи *Triaenophorus nodulosus* (Pall.). Паразитол., 2 (1) : 42—49.
- Тимофеев В. А. и Куперман Б. И. 1972. Электронномикроскопические данные о возникновении и формировании микротрихий у цестод на примере *Triaenophorus nodulosus*. ДАН СССР, 207 (3) : 757—759.
- Уголев А. М. 1963. Пристеночное (контактное) пищеварение. Изд. АН СССР М.—Л. : 1—170.
- Варон Р. J. 1968. On the histology and ultrastructure of *Cysticercus longicollis*, the cysticercus of *Taenia crassiceps* Zeder, 1800 (Cestoda, Cyclophyllidae). Parasitology, 58 : 497—513.
- Бегуйн F. 1966. Etude au microscope electronique de la cuticule et de ses structures associés chez quelques cestodes. Essai de histologie comparée. Z. Zellforsch., 72 : 30—46.

- Braten T. 1968a. An electron microscope study of the tegument and associated structures of proceroid of *Diphyllbothrium latum* (L.). *Z. Parasitenk.*, 30 : 95—103.
- Braten T. 1968b. The fine structure of the tegument of *Diphyllbothrium latum* (L.). A comparison of the plerocercoid and adult stages. *Z. Parasitenk.*, 30 : 104—112.
- Charles G. H. and Orr S. C. 1968. Comparative fine structure of the outer tegument of *Ligula intestinalis* and *Schistocephalus solidus*. *Exper. parasitol.*, 22 : 1372—149.
- Kent F. H. N. 1957. Aspect biochimique de la specificite chez les cestodes. *Sympos. specificite parasites vertebres*. Neuchatel : 293—308.
- Lumsden R. D. 1965. Macromolecular structure of glycogen in some cyclophyllidean and trypanorhynch cestodes. *J. Parasitol.*, 51 (4) : 501—515.
- Lumsden R. D. 1966. Cytological studies on absorptive surface of cestodes. I. Fine structure of the strobilar integument. *Z. Parasitenk.*, 27 : 355—382.
- Morris G. P. and Finnegan C. V. 1969. Studies of the differentiating plerocercoid cuticle of *Schistocephalus solidus*. II. The ultrastructural examination of cuticle development. *Canad. J. Zool.*, 47 (5) : 957—964.
- Read C. P. 1955. Intestinal physiology and the host—parasite relationship. In: *Some physiological aspects and consequences of parasitism.*, N. Y. : 27—43.
- Raj K. and Smyth J. D. 1969. *Echinococcus granulosus*: ultrastructure of microtriches. *Exp. Parasitol.*, 25 (1—3) : 232—244.
- Rifkin E., Cheng T. C. and Hohl H. R. 1970. The fine structure of the tegument of *Tylocephalum metacestodes*. With emphasis on a new type of microvilli. *J. Morphol.*, 130 (1) : 11—23.
- Rosario B. 1962. The ultrastructure of the cuticle in the cestodes *Hymenolepis nana* and *H. diminuta*. *Proc. V. intern. Congr. electron microsc.*, Philadelphia : 18.
- Rothman A. H. 1959. The physiology of tapeworms correlated structures seen with electron microscope. *J. parasitol.*, 46, suppl. : 28.
- Rothman A. H. 1960. Ultramicroscopic evidence of absorptive function in cestodes. *J. parasitol.*, 46, suppl. : 10.
- Rothman A. H. 1968. Enzyme localization and colloid transport in *Haematolechus medioplexus*. *J. parasitol.*, 54 (2) : 286—294.
- Siddiqui E. H. 1963. The cuticle of cysticerci *Taenia saginata*, *T. hydatigera* and *T. pisiformis*. *Quart. J. microsc. sci.*, 104 : 141—144.
- Threadgold L. T. 1962. An electron microscope study of the tegument and associated structures of *Dipylidium caninum*. *Quart. J. microsc. sci.*, 103 : 135—140.
- Threadgold L. T. 1965. An electron microscope study of the tegument and associated structures of *Proteocephalus pollanicolli*. *Parasitology*, 55 : 467—472.

ELECTRON MICROSCOPE STUDIES OF THE RISE AND FORMATION OF INTEGUMENT IN *TRIAENOPHORUS NODULOSUS*

V. A. Timofeev and B. I. Kuperman

S U M M A R Y

The authors did the first electron microscope studies of the rise and formation of the cuticular-subcuticular complex of *Triaenophorus nodulosus* and associated structures in the period of the transformation of oncosphere into proceroid. The initial stages of larval formation in the body cavity of cyclops proceed under the protection of a dense membrane (the first 24 hours of the development). Then the dense membrane disappears and numerous irregularly arranged microvilli arise on the surface of the body. They are analogous to those of the intestinal epithelium of the animals (the 2nd—3d day of the development). A regular arrangement of microvilli and genesis of internal structures of the upper layer proceed on the 4th—7th day. Between the 7th and 8th day microvilli disappear and take place an anlage and full development of new organoids of cestodes microtrichiae. Microtrichiae preserve a similar structure on the subsequent developmental phases of the parasite (both in plerocercoid and adult). The final formation of microtrichiae, cuticle and subcuticular layer of proceroid of *T. nodulosus* occurs on the 8th—9th day. The change of ultrastructures of the body surface is associated with the change of mode of feeding at various stages of the development of proceroid.

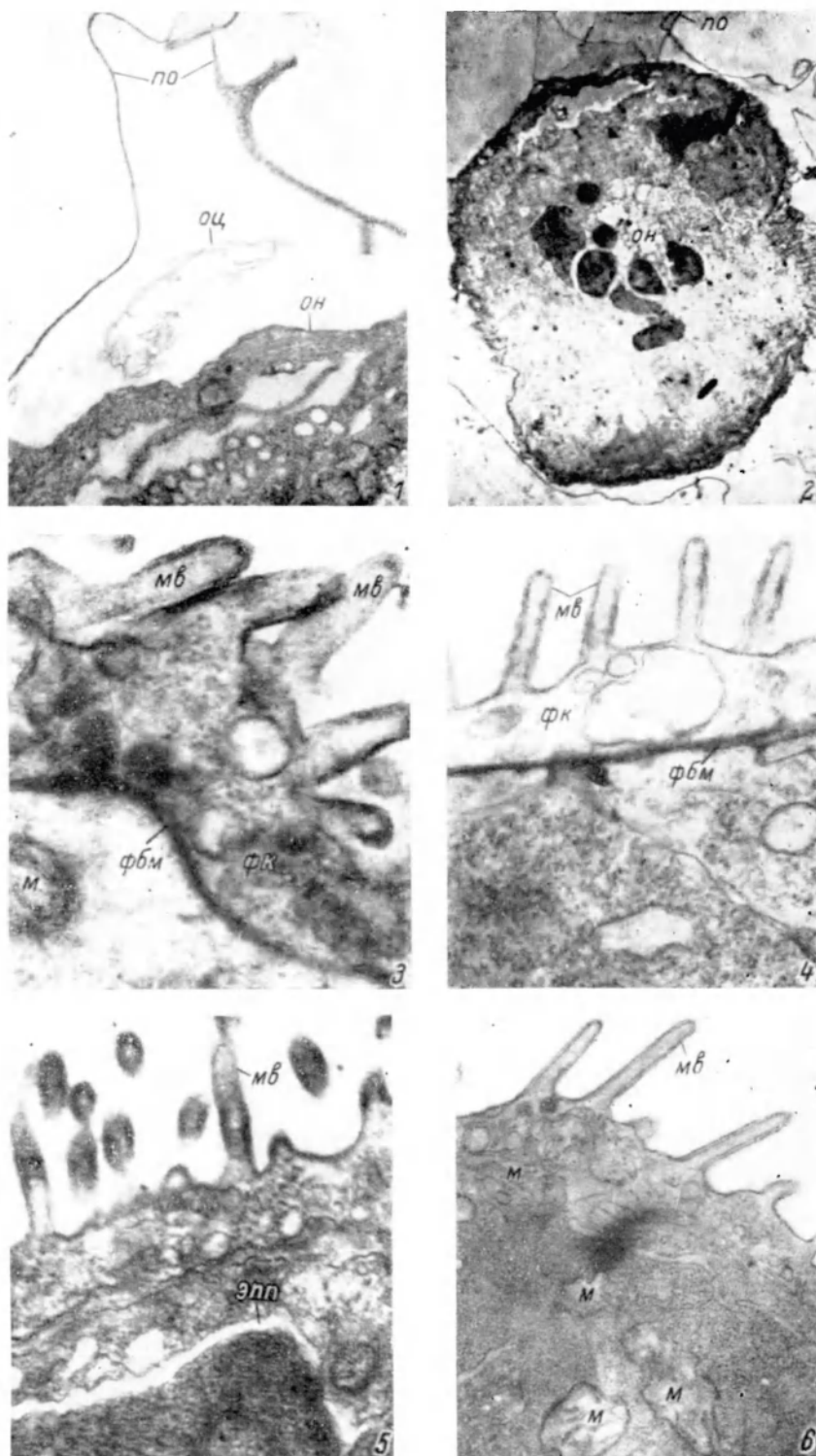


Рис. 1—6. Последовательные этапы формирования поверхностного слоя в процессе развития онкосферы в процеркоид у *T. nodulosus*.

1 — онкосфера, покрытая плотной оболочкой, из кишечника циклопа через 5 мин. после его заражения ($\times 12\ 000$); 2 — первые сутки развития процеркоида в полости тела циклопа под защитой плотной оболочки ($\times 2000$); 3 — образование неупорядоченно расположенных микроворсинок на поверхности тела процеркоида на вторые сутки в полости тела циклопа ($\times 24\ 000$); 4 — упорядоченное расположение микроворсинок на четвертые сутки развития ($\times 12\ 000$); 5 — появление электроннопрозрачных промежутков между клетками и слоями на пятые сутки ($\times 23\ 000$); 6 — поверхность тела процеркоида седьмого дня развития ($\times 12\ 000$); по — плотная оболочка онкосферы; он — онкосфера; оц — остаток цитоплазмы наружного слоя корацидия; м — митохондрии; мб — микроворсинки; фб — формирующая кутикула; фбм — формирующаяся базальная мембрана; эпп — электроннопрозрачные промежутки.

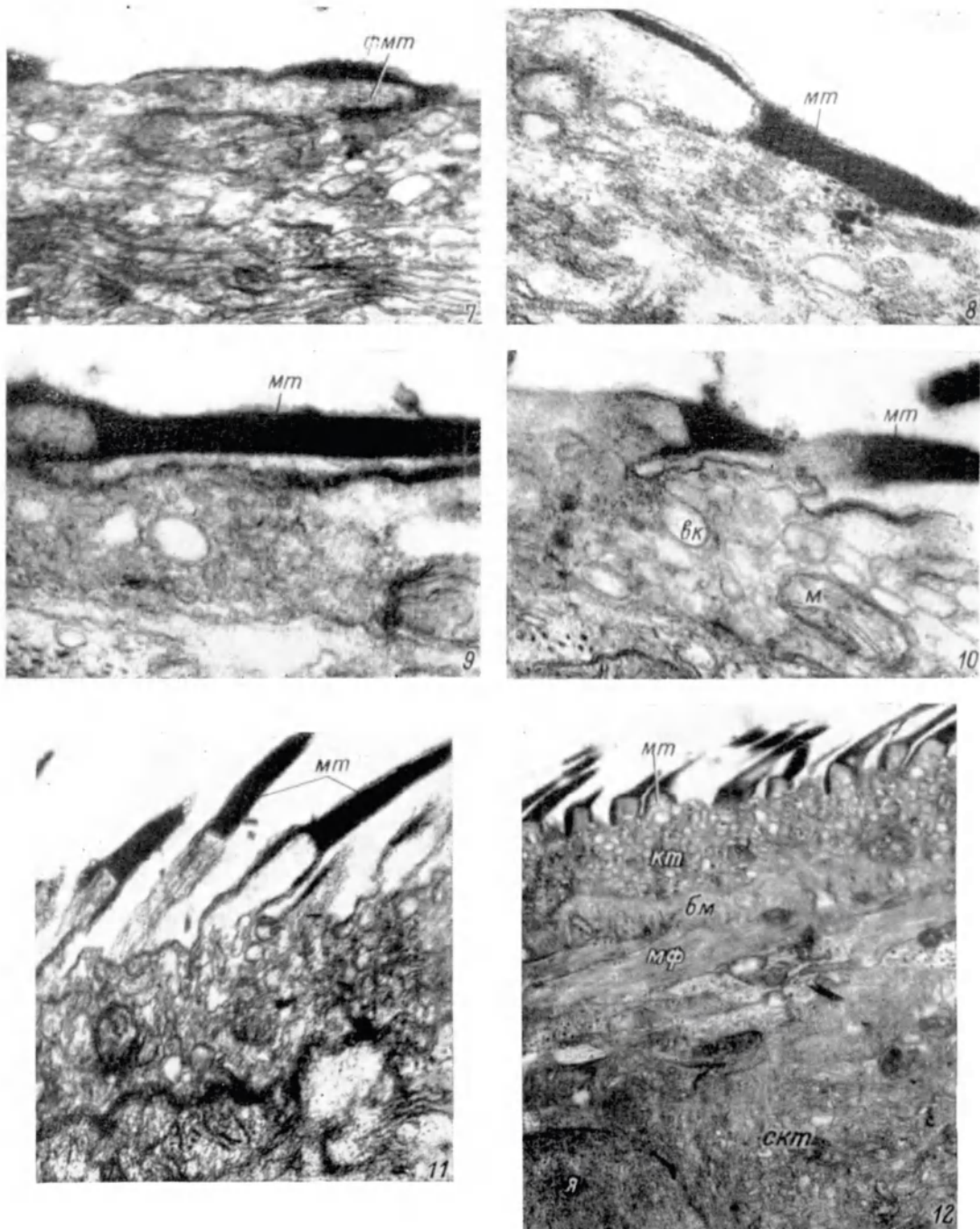


Рис. 7—12. Этапы формирования и обособления микротрихий на поверхности тела процеркоида *T. nodulosus*. Электронномикроскопическое фото.

7 — закладка микротрихий под кутикулярной мембраной ($\times 60\,000$); 8 — окончательный этап формирования микротрихий поверхностным слоем процеркоида ($\times 75\,000$); 9 — обособление микротрихий от поверхностного слоя процеркоида ($\times 55\,000$); 10 — начальный этап выпрямления микротрихий ($\times 73\,000$); 11 — последующий этап выпрямления микротрихий ($\times 55\,000$); 12 — поверхность тела полностью сформированного процеркоида ($\times 6\,000$).
 бм — базальная мембрана; вк — вакуоли; кт — кутикула; мт — микротрихий; мф — миофибриллы; скт — субкутикула; фмт — формирующиеся микротрихий; я — ядро. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1—5.